



TITLE:

桿体・錐体視細胞の異なる細胞応答を生み出す視物質の分子特性の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

小島, 慧一

CITATION:

小島, 慧一. 桿体・錐体視細胞の異なる細胞応答を生み出す視物質の分子特性の解析. 京都大学, 2016, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19541>

RIGHT:

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏名	小島 慧一
論文題目	桿体・錐体視細胞の異なる細胞応答を生み出す視物質の分子特性の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>多くの脊椎動物の網膜には、形態的に異なる2種類の視細胞(桿体視細胞と錐体視細胞)が存在し、前者は暗所視を、後者は明所視と色覚を担っている。両者は極めてよく似た光情報伝達系を有するが、前者は高い光感度と遅い光応答を示し、後者は低い光感度と速い光応答を示す。両細胞にはそれぞれ、桿体視物質(ロドプシン)と錐体視物質が発現している。視物質は後続のGタンパク質(トランスデュシン、Gt)を活性化することで、光情報伝達過程を駆動する最初のタンパク質であり、その分子特性によって光感度などの視細胞の応答特性を直接調節することが可能である。そのため、視細胞の応答を理解する上で視物質の分子特性を解明することは非常に重要である。錐体視物質を異所的に桿体視細胞に発現させた遺伝子改変マウスの知見などから、ロドプシンは錐体視物質に比べて光情報伝達の増幅効率を高め、熱活性化頻度を低下させることで、桿体視細胞の高い光感度に貢献してきたことが示唆された。しかし、それらがロドプシンのどのような分子特性、アミノ酸残基によって獲得されたのかは明らかになっていない。そこで、本研究では、分光学的・生化学的手法を組み合わせ、視物質の分子特性を測定する系を構築し、分子メカニズムの解明を目指した。</p> <p>ロドプシンの光情報伝達の高い増幅効率の分子メカニズムの解明のために、ナノディスクと呼ばれる脂質二重膜を利用した。最初にナノディスクが天然膜環境を再現できることを確認した。その後、分光学的手法を用いて、ナノディスク中の視物質の光依存的なGt活性化を測定したところ、ロドプシンは錐体視物質に比べて約2-3倍代謝回転数が大きいことが分かった。特に生理温度(37℃)では、マウスロドプシンの代謝回転数はマウス緑錐体視物質の2.5倍であり、遺伝子改変マウスにおける両者の光情報伝達の増幅効率の違い(約3倍)とよく一致した。このことから、ロドプシンは錐体視物質からの分子進化の過程で、Gt活性化の代謝回転数を高めることで、光情報伝達の増幅効率を高めたと考えられた。</p> <p>次に、生化学的・分光学的手法を用いて、視物質の熱活性化頻度を測定する実験系を構築した。ウシロドプシンとニワトリ緑の変異体解析から、122番目のグルタミン酸(E122)と189番目のイソロイシン(I189)が熱活性化頻度の低下に貢献していることが分かった。また、視物質の熱活性化頻度と活性状態の崩壊速度の間に強い相関があることも見出された。このことから、ロドプシンは錐体視物質から分子進化の過程でE122とI189を獲得し、レチナール結合ポケットが閉じた状態を安定化することで、熱活性化頻度を低下させたと考えられた。</p> <p>以上の結果から、桿体視細胞の高い光感度をもたらすロドプシンの分子特性とそれを実現するアミノ酸残基が明らかとなった。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

多くの脊椎動物の網膜には、2種類の視細胞、桿体と錐体が存在し、それぞれ、暗所視および明所視を担っている。両視細胞には同様な機能を持つシグナル伝達タンパク質が存在するが、その性質や細胞内の含量が異なることにより、両視細胞の応答特性が異なると考えられている。両視細胞に含まれる視物質のこれまでの研究から、桿体に含まれるロドプシンは分子進化の過程で錐体視物質から分岐し、暗所視に必要な分子特性を獲得したと考えられる。そこで、遺伝子操作により、ロドプシンではなく錐体視物質を含む桿体を持つマウスモデルを作製した結果、桿体の光感度が1/3になり、暗ノイズが900倍ほど増加することがわかった。本研究は桿体のこの応答特性の変化が、ロドプシンと錐体視物質のどのような分子特性の違いによって実現しているかについて検討したものである。

まず、ロドプシンを錐体視物質に置換すると桿体の光感度が1/3に減少することについて検討した。そのために、視細胞中での視物質の存在状態を模倣するナノディスクと呼ばれる脂質二重層の中に視物質を組み込み、ロドプシンと錐体視物質のGタンパク質活性化効率を比較検討した。その結果、ロドプシンのほうが約2.5倍の活性化効率を示すことがわかった。以上のことから、ノックインマウスでの光感度の違いの主な原因は、ロドプシンと錐体視物質のGタンパク質活性化効率の違いであることが明らかになった。次に、桿体の暗ノイズが900倍ほど増加することについて、まず、暗ノイズの原因となるロドプシンと錐体視物質の熱異性化の頻度を生化学的に測定する系を立ち上げた。そして、両視物質の熱異性化の頻度の違いが暗ノイズの違いに対応することを確認した。また、変異体解析の結果、両視物質の熱異性化の頻度の違いが、N端から122番目と189番目の残基の違いで説明できることを発見した。さらに、熱異性化の頻度の違いと活性状態の寿命との間に強い相関のあることを発見し、これらはタンパク質の安定性の違いに起因することを明らかにした。以上の研究は、ロドプシンと錐体視物質の分子特性の違いから視細胞の応答特性を説明することに成功したものとして世界的にも高く評価されている。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年1月13日に論文内容とそれに関連した事項について諮問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降